

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
22 décembre 2005 (22.12.2005)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2005/120590 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
A61K 51/12, 9/14, A61P 35/04

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2005/001145

(22) Date de dépôt international : 9 mai 2005 (09.05.2005)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0405036 10 mai 2004 (10.05.2004) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :
NANOBIOTIX [FR/FR]; 36, rue du Sentier, F-75002
Paris (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : LEVY,
Laurent [FR/FR]; 7, square Eugène Hattou, F-75012
Paris (FR). HOCHEPIED, Jean-François [FR/FR];
27, rue de la Gare de Reuilly, F-75012 Paris (FR). BA-
LENCIE, Jérémy [FR/FR]; 32bis, rue de la Houzelle,
F-77250 Veneux-les-Sablons (FR). PRASAD, Parus,
Nath [US/US]; 51 Waterford Parkway, Williamsville, NY
14138 (US). BERGEY, Earl, Jim [US/US]; 12 990 Dyc
Rd., South Dayton, NY 14138 (US). PANAK, Edouard,
André [FR/FR]; 67, chemin du Loup, F-31100 Toulouse
(FR). BOUSSAHA, Abdel, Kader [FR/FR]; 21, rue du
Caire, F-75002 Paris (FR).

(74) Mandataires : BECKER, Philippe etc.; Becker et Asso-
ciés, 25, rue Louis Le Grand, F-75002 Paris (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO,
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,
KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,
PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM,
SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN,
YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO,
SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,
GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclaration en vertu de la règle 4.17 :

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)) pour US
seulement

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale
— avant l'expiration du délai prévu pour la modification des
revendications, sera republiée si des modifications sont re-
çues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: ACTIVATABLE PARTICLES, PREPARATIONS AND USES.

(54) Titre : PARTICULES ACTIVABLES, PREPARATION ET UTILISATIONS

(57) Abstract: The invention relates to activatable novel particles which can be used in the health sector. The invention more particularly relates to composite particles which can generate free radicals or heat when excited by X-rays. The invention also relates to the uses thereof in human health. The inventive particles comprise an inorganic-based, and optionally organic-based, nucleus and can be activated in vivo in order to mark or affect cells, tissue or organs. The invention further relates to methods for the production of said particles, and pharmaceutical or diagnostic compositions containing them.

(57) Abrégé: La présente invention concerne de nouvelles particules activables utilisables dans le domaine de la santé. Elle concerne notamment des particules composites capables de générer des radicaux libres ou de la chaleur sous excitation aux rayons X, et leurs utilisations en santé, notamment humaine. Les particules de l'invention comprennent un noyau à base de composés inorganiques et, éventuellement organique, et elles peuvent être activées in vivo, pour marquer ou altérer des cellules, tissus ou organes. L'invention concerne également des méthodes de production de telles particules, ainsi que des compositions pharmaceutiques ou diagnostiques les contenant.

WO 2005/120590 A1

Particules activables, préparation et utilisations

La présente demande concerne de nouvelles particules activables utilisables dans le domaine de la santé. Elle concerne notamment des particules composites capables de générer des radicaux libres ou de la chaleur sous excitation aux rayons X, et leurs utilisations en santé, notamment humaine. Les particules de l'invention comprennent un noyau à base de composés inorganiques et, éventuellement, organiques, et elles peuvent être activées in vivo, par excitation externe contrôlable, pour marquer ou altérer des cellules, tissus ou organes. L'invention concerne également des méthodes de production de telles particules, ainsi que des compositions pharmaceutiques ou diagnostiques les contenant.

La thérapie photo dynamique (PDT) a été qualifiée et est maintenant utilisée pour traiter les cancers superficiels comme celui de la peau ou de l'œsophage (voir par exemple McCaughan, J.S. Jr., *Drugs and Aging*, 15: 49-68 (1999) "*Photodynamic Therapy: A Review*"). Ce traitement est basé sur la production de radicaux libres par des molécules photosensibles, lors de l'exposition à de forts rayonnements UV ou LASER. En effet, les molécules activées transforment l'oxygène qui les entoure en radicaux libres qui sont des espèces hautement réactives produisant des dommages irréversibles dans les cellules. Les organes cellulaires principalement attaqués sont les mitochondries, les membranes cellulaire et nucléaire, les lysosomes etc..

Les molécules photosensibles sont injectées par voie intraveineuse et sont généralement retenues en concentration supérieure dans les tissus cancéreux. Ceci permet, après un certain temps, d'avoir une concentration dans les tissus à traiter plus importante que dans les tissus sains. Lorsque ces molécules sont exposées à la lumière (avec une longueur d'onde appropriée), elles produisent des radicaux libres à partir de l'oxygène, qui vont réagir avec des éléments vitaux de la cellule.

La thérapie photodynamique présente cependant certaines limites. En effet, les patients peuvent développer une certaine sensibilité à la lumière, ce

qui limite le nombre d'applications de cette thérapie à un individu donné. D'autre part, les faibles longueurs d'ondes des rayonnements utilisés pour l'excitation des molécules photosensibles ne permettent pas de traverser une grande épaisseur de tissu, ce qui présente l'avantage d'être peu toxique pour les autres tissus, mais restreint l'indication aux cancers superficiels (peau et sub-cutanés). D'autres problèmes potentiels inhérents à l'utilisation de la thérapie photodynamique sont liés à la toxicité des molécules photosensibles et à la nécessité, dans certains cas, de l'utilisation d'oxygène pour « charger » les tissus à traiter.

Une autre approche utilisant des particules de TiO_2 a montré qu'il était possible de générer des radicaux libres à partir de molécules d'eau et d'oxygène sous une excitation UV [Shibata et al., Bioscience Biotechnology and Biochemistry 62:2306-2311 (1998)]. Cette approche a été utilisée sur des modèles in vitro et in vivo de cancer de la vessie.

Une autre approche, basée sur l'utilisation de particules activables par application d'un champ magnétique, a été décrite dans le brevet No. US6,514,481. La présente invention décrit une nouvelle classe de particules, désignées NanoXRay, utilisables en thérapie photo-dynamique. La présente invention décrit notamment de nouvelles particules, activables par des rayons X et/ou par des UV, capables d'induire une réponse thérapeutique ou diagnostique in vivo, de manière ciblée, même dans des tissus profonds.

La présente demande offre donc ainsi de nouveaux composés utilisables en thérapeutique et/ou en diagnostique (par exemple en imagerie), notamment chez l'homme. Les particules de l'invention peuvent être mises en œuvre pour marquer, altérer ou détruire des cellules, tissus, ou organes, si nécessaire de manière ciblée, en combinaison avec une source de rayons X et/ou de rayons UV. Les particules de l'invention sont applicables à tout type de tissu, superficiel ou profond, chez tout organisme mammifère.

Un premier aspect de l'invention concerne donc des particules ou agrégats nanoparticulaires composites, capables de générer des radicaux libres et/ou de la chaleur sous excitation par des Rayons X et/ou UV.

Selon un autre aspect, l'invention concerne toute particule ou tout agrégat nanoparticulaire composé d'au moins deux composés inorganiques (de compositions distinctes), pouvant être traitée en surface afin de cibler spécifiquement des cellules ou des tissus biologiques, et ayant pour action de perturber ou de modifier un tissu biologique et/ou une cellule sous l'effet d'une source d'excitation.

Un objet plus particulier de l'invention réside dans une particule ou un agrégat nanoparticulaire composite biocompatible (capable de générer des radicaux libres ou de la chaleur sous excitation par des rayons X), comprenant :

- un noyau comprenant un premier composé inorganique absorbant les rayons X et émettant de l'énergie UV-visible, et un second composé, inorganique ou organique, absorbant de l'énergie UV-visible et produisant des radicaux libres au contact de l'eau ou de l'oxygène, et
- de manière facultative, un enrobage biocompatible.

Un autre objet de l'invention concerne un procédé de préparation de particules ou agrégats tels que définis ci-dessus.

Un autre objet de l'invention réside dans des compositions, pharmaceutiques ou diagnostiques, comprenant des particules ou agrégats tels que définis ci-dessus ou susceptibles d'être obtenus par le procédé ci-dessus.

Un autre objet de l'invention réside dans l'utilisation des compositions, particules ou agrégats tels que définis ci-dessus, pour le marquage ou la destruction de cellules, tissus ou organes, in vitro, ex vivo ou in vivo, ainsi que dans des méthodes correspondantes.

Au sens de l'invention, on entend par "particule" ou "agrégat nanoparticulaire" composite des produits complexes, synthétiques, de taille réduite. Leur forme peut être variée, par exemple arrondie, aplatie, allongée, sphérique, ovale, etc. La forme peut être déterminée ou contrôlée par le procédé de fabrication, et adaptée par l'homme du métier selon les applications recherchées.

La forme des particules n'a pas une grande influence sur leurs propriétés, notamment sur le rendement de la production de radicaux libres. Cependant, la forme peut influencer la « biocompatibilité » des particules. Ainsi, pour des raisons de pharmacocinétique, on préfère des particules ou agrégats nanoparticulaires de forme essentiellement sphérique ou arrondie. On préfère d'autre part des particules ou agrégats nanoparticulaires de forme assez homogène.

De manière préférée, la taille des particules ou agrégats nanoparticulaires selon l'invention est typiquement comprise entre 4 et 250 nm environ. Pour des applications in vivo chez l'homme ou l'animal, on préfère tout particulièrement des particules ou agrégats nanoparticulaires dont la taille est comprise entre 4 et 100 nm, encore plus préférentiellement entre 4 et 50 nm. En effet, la taille des objets doit idéalement être suffisamment petite pour leur permettre de diffuser dans l'organisme (tissus, cellules, vaisseaux sanguins, etc.), essentiellement sans être captés par les macrophages (phagocytose) et sans provoquer d'obstruction significative. De tels effets peuvent être obtenus avantageusement chez l'homme avec des particules d'une taille inférieure à 100 nm, préférentiellement inférieure à 50 nm.

Les particules ou agrégats selon l'invention doivent être biocompatibles, c'est-à-dire pouvoir être administrés à un organisme, typiquement un mammifère. Ce caractère biocompatible peut être assuré par exemple par la nature des composés constitutifs de la particule et/ou de l'enrobage éventuel.

Comme indiqué précédemment, les particules selon l'invention comprennent au moins deux types de composés inorganiques ayant des propriétés particulières, éventuellement recouverts d'un enrobage.

Le premier composé formant le noyau de la particule est un composé (ou un mélange de composés) inorganique(s) absorbant les rayons X et émettant de l'énergie UV-visible. La fonction principale de ce matériau est d'absorber les rayons X et de générer de l'énergie UV-visible, en particulier des UV. On utilise avantageusement un composé inorganique sous forme d'oxyde, hydroxyde, oxysulfure ou de sel, préférentiellement dopé par un agent dopant, de préférence choisi parmi les terres rares. Les propriétés de ce premier composé peuvent être ajustées par l'homme du métier en fonction du type de dopant utilisé, de la configuration électronique et de l'environnement cristallin autour de ce dopant, ainsi que de sa concentration. De manière particulièrement préférée, le dopant est choisi parmi les terres rares, de préférence à une concentration en cations (dopant) inférieure ou égale à environ 15% en solution solide. Ce % correspond au rapport de concentration des cations de terre rare sur les cations du composé inorganique.

Dans un mode de mise en œuvre particulier, l'invention concerne une particule ou un agrégat nanoparticulaire tel que défini précédemment, dans lequel le premier composé inorganique est choisi parmi les oxydes et les hydroxydes dopés avec une terre rare, de préférence à une concentration inférieure à 15% en solution solide, ainsi que les composés mixtes d'oxydes de Ge, Hf et/ou Zr, dopés ou non, de préférence dopés à l'aide de cations de terre rare.

Le premier composé inorganique (ou composé principal) peut être choisi avantageusement parmi les composés suivants : Y_2O_3 , $(Y,Gd)_2O_3$, $CaWO_4$, GdO_2S , $LaOBr$, $YTaO_3$, $BaFCl$, Gd_2O_2S , $Gd_3Ga_5O_{12}$, $Rb_3Lu(PO_4)_2$, $HfGeO_4$, et $Cs_3Lu(PO_4)_2$. Des composés particulièrement préférés dans le cadre de l'invention sont les oxydes Y_2O_3 et $HfGeO_4$.

Le dopant utilisé est avantageusement une terre rare choisie par exemple parmi Gd, Eu, Tb, Er, Nb, Pr et Ce. Des dopants particulièrement préférés sont Gd, Eu et Tb.

Dans un exemple spécifique de particule selon l'invention, le premier composé inorganique est choisi parmi Y_2O_3 dopé avec Gd, Eu ou Tb.

Dans un second exemple spécifique de particule selon l'invention, le premier composé inorganique est le $HfGeO_4$ dopé ou non, de préférence dopé, ou le $HfGeO_4$ en solution mixte avec Zr (qui peut représenter jusqu'à 50% de la solution mixte).

Il est entendu que d'autres composés inorganiques, oxydes, hydroxydes, oxysulfures ou sels et dopants peuvent être envisagés par l'homme du métier pour la réalisation de particules selon l'invention. En outre, plusieurs oxydes, hydroxydes, oxysulfures ou sels et/ou dopants peuvent être utilisés en mélange dans une même particule de l'invention.

Le second composé formant le noyau de la particule est un composé (ou un mélange de composés) inorganique ou organique absorbant de l'énergie UV-visible et produisant des radicaux libres au contact de l'eau ou de l'oxygène. La fonction principale de ce matériau est d'absorber l'énergie UV-visible, notamment les UV, et de transformer l'eau (ou O_2) présente à la surface de ce composé en radicaux libres par une réaction de type photo-catalytique.

Le second composé est avantageusement un composé inorganique, qui peut être choisi parmi les composés semi-conducteurs, tels que notamment le TiO_2 , le ZnO et, de manière non restrictive, CdS , $CdSe$, $CdTe$, $MnTe$ et des solutions mixtes (par exemple $CdZnSe$, $CdMnSe$, etc.), éventuellement dopés (comme décrit pour le premier composé inorganique).

Dans un mode particulier de mise en œuvre, on utilise comme second composé inorganique TiO_2 , avantageusement sous forme anatase, et éventuellement dopé.

Dans une autre variante de réalisation, le second composé peut être une molécule organique absorbant dans la région de l'UV et générant des radicaux libres en présence d'oxygène (par exemple certaines molécules utilisées en

thérapie photodynamique). On préfère toutefois utiliser comme second composé un composé inorganique.

Dans le noyau des particules de l'invention, les composés inorganiques (et éventuellement organiques) peuvent être agencés ou organisés de différentes façons.

Ainsi, dans une première variante de mise en œuvre, le premier composé inorganique forme le cœur du noyau, et le second composé (inorganique ou organique) se présente sous forme d'une couche ou de nanoparticules à la surface du cœur (voir Figure 1A et 1B).

Dans une variante de mise en œuvre spécifique, les deux composés inorganiques du noyau sont disposés en multicouches successives, le premier composé inorganique formant préférentiellement la couche interne (le cœur).

Ainsi, une forme de réalisation préférée de l'invention consiste en des particules dont le noyau comprend un cœur constitué par le premier composé inorganique, recouvert d'une couche formée par le second composé (Figure 1A). Le cœur du noyau formé par le premier composé inorganique présente typiquement une dimension comprise entre 5 et 50 nm environ, par exemple entre 7 et 40 nm, et/ou la couche formée par le second composé à la surface du cœur possède une épaisseur comprise typiquement entre 1 et 30 nm environ, par exemple entre 2 et 25 nm.

Dans une autre variante de mise en œuvre, les deux composés du noyau sont présents sous forme d'un mélange de nanoparticules (Figure 1C). De telles nanoparticules peuvent être de taille et de forme variées. D'une manière générale, à titre indicatif, les nanoparticules présentent une taille comprise entre 3 et 100 nm environ et préférentiellement entre 5 à 25 nm.

Dans une autre variante de mise en œuvre, les deux composés inorganiques du noyau sont présents sous forme de deux noyaux au contact l'un de l'autre (Figure 1D).

De manière générale, l'efficacité ou les propriétés des particules peuvent être adaptées par l'homme du métier en jouant sur la quantité relative des deux

types de composés, le recouvrement entre les spectres d'émission et d'absorption des deux composés inorganiques, la structure cristalline des matériaux, la surface de contact entre le second composé et l'eau et/ou la distance entre le premier et le second composés.

S'agissant de la quantité relative des deux composés, on préfère typiquement des particules dans lesquelles les deux composés sont présents en des quantités similaires. Le rapport de la quantité ou de la concentration du premier composé sur le second composé peut toutefois être ajusté par l'homme du métier, de préférence dans une gamme allant de 0,1 à 10, plus préférentiellement de 0,2 à 5.

Par ailleurs, les expériences réalisées par les inventeurs montrent que plus le recouvrement entre le spectre d'émission du premier composé inorganique (matériau de cœur) et le spectre d'absorption du second composé est important, plus le rendement des particules est important.

De même, plus la surface de contact entre le second composé (par exemple TiO_2) et l'eau est importante, plus le rendement est important.

D'autre part, le rendement du transfert d'énergie dans les particules dépend également de la distance entre le premier composé inorganique (matériau de cœur) et le second. Plus cette distance est courte et/ou plus la surface de contact est importante, plus le transfert d'énergie est efficace et plus la particule est active.

L'homme du métier peut donc adapter les propriétés des particules en faisant varier les paramètres mentionnés ci-dessus, par exemple en fonction des utilisations envisagées (diagnostic, thérapeutique, etc.).

Il est entendu que les particules de l'invention peuvent comprendre, outre les deux types de composés décrits précédemment, d'autres molécules, composés ou matériaux de structure ou de surface, destinés à améliorer leur stabilité, propriété, fonction, spécificité, etc.

Ainsi, comme indiqué précédemment, les particules ou agrégats nanoparticulaires selon l'invention peuvent comprendre en outre un élément de surface permettant de cibler spécifiquement des cellules ou des tissus

biologiques. Cet élément de surface peut être lié aux particules par tout moyen, de préférence covalent, éventuellement par l'intermédiaire d'un segment de liaison. Il peut être associé à l'un des composés inorganiques ou à l'enrobage éventuellement présent, comme il sera décrit dans la suite du texte.

L'élément de ciblage de surface peut être toute structure biologique ou chimique présentant une affinité pour des molécules présentes dans le corps humain ou animal. Il peut ainsi s'agir d'un peptide, polypeptide, nucléotide, polynucléotide, une hormone, une vitamine, etc. et, de manière générale, de tout ligand de molécules (par exemple récepteurs, marqueurs, antigènes, etc.). On peut mentionner à titre d'illustration des ligands de molécules exprimées par des cellules pathologiques, notamment des ligands d'antigènes tumoraux, de récepteurs hormonaux, de récepteurs de cytokines ou de récepteurs de facteurs de croissance, par exemple.

L'élément de ciblage permet, lorsqu'il est présent, de diriger préférentiellement les particules de l'invention vers des cellules, tissus ou organes d'intérêt, et ainsi de confiner l'action à ces tissus. Un tel ciblage est particulièrement utile lorsque les particules sont administrées par voie systémique, par exemple pour les tissus profonds.

Comme indiqué précédemment, les particules ou agrégats nanoparticulaires selon l'invention peuvent comprendre en outre un enrobage. Un tel enrobage permet avantageusement de préserver l'intégrité des particules in vivo, d'assurer ou d'améliorer leur biocompatibilité, et de faciliter leur fonctionnalisation (par exemple avec des molécules de liaison (« spacer »), des polymères biocompatibles, des agents de ciblage, des protéines, etc.).

L'enrobage peut être composé de toute structure amorphe ou cristalline. Pour préserver l'activité des particules de l'invention, il est souhaitable que l'enrobage permette la diffusion de petites molécules et de radicaux libres. En particulier, il est important que l'enrobage permette le passage de l'eau (ou O₂) et de sa forme radicalaire après transformation. Ceci peut être assuré en

utilisant des matériaux présentant une certaine porosité et/ou une couche d'enrobage de faible épaisseur et poreuse. Ainsi par exemple, on utilise typiquement un enrobage possédant une porosité comprise entre 0,2 et 10 nm. L'enrobage possède par ailleurs une épaisseur comprise généralement entre 0,1 et 50 nm environ, par exemple entre 0,2 et 40 nm.

De façon générale, l'enrobage peut être non-biodégradable ou biodégradable. Pour les enrobages non-biodégradables, on utilise par exemple un ou plusieurs matériaux choisis parmi la silice, l'agarose, l'alumine, un polymère carboné saturé ou un polymère inorganique, réticulé ou non, modifié ou non (le polystyrène par exemple). Pour les enrobages biodégradables, on utilise par exemple un ou plusieurs matériaux choisis parmi des molécules biologiques modifiées ou non, naturelles ou non, un polymère de molécule biologique modifiée ou non, de forme naturelle ou non, ou un polymère biologique, tel que le saccharide, un oligosaccharide, un polysaccharide, polysulfaté ou non, par exemple le dextran. Les matériaux ou composés ainsi mentionnés peuvent être utilisés seuls ou en mélanges ou en assemblages, composites ou non, covalents ou non, éventuellement en combinaison avec d'autres composés. D'autre part, on peut également utiliser tout matériau mentionné ci-dessus, hydro- ou liposoluble, de façon naturelle ou artificielle.

L'enrobage comprend de préférence un ou des composés choisis parmi la silice (SiO_2), l'alumine, le Polyéthylène Glycol (PEG) ou le Dextran, éventuellement en mélange(s).

L'enrobage peut par ailleurs comporter différents groupes fonctionnels (ou segments de liaison), permettant la liaison à la surface de la particule de toute molécule d'intérêt.

Des groupes fonctionnels utiles sont par exemple $(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, dans lequel n est un entier allant de 1 à 10.

Les molécules couplées à la surface de la particule peuvent être, par exemple :

- l'agent de ciblage ;

- une molécule assurant ou améliorant la biocompatibilité ; ou
- une molécule permettant à la particule d'échapper au système immunitaire (et notamment d'éviter les interactions avec les macrophages et SRE).

Dans un mode de réalisation préféré, les particules ou agrégats nanoparticulaires selon l'invention comprennent un enrobage auquel l'élément de ciblage de surface est lié, de préférence par l'intermédiaire d'un segment de liaison.

Des particules ou agrégats préférés de l'invention comprennent, à titre de premier composé inorganique, Y_2O_3 dopé par une terre rare ou $HfGeO_4$ éventuellement dopé et/ou en solution mixte avec Zr, à titre de second composé inorganique, TiO_2 et, de préférence, un enrobage à base de SiO_2 ou de Dextran.

Des particules ou agrégats particuliers au sens de l'invention comprennent, à titre de premier composé inorganique, $Y_2O_3:Gd$, à titre de second composé inorganique, TiO_2 de structure anatase et, de préférence, un enrobage à base de SiO_2 .

D'autres particules ou agrégats particuliers au sens de l'invention comprennent, à titre de premier composé inorganique, $Y_2O_3:Tb$, à titre de second composé inorganique, TiO_2 et, de préférence, un enrobage à base de Dextran.

Des exemples de particules sont notamment:

- Une particule ou un agrégat comprenant un cœur comprenant du $Y_2O_3:Gd$ recouvert d'une couche de TiO_2 , et un enrobage à base de SiO_2 , de préférence fonctionnalisé. De préférence, le cœur possède une forme arrondie ou sphérique, de dimension comprise entre 5 et 50 nm environ (typiquement de l'ordre de 30nm), la couche de TiO_2 possède une épaisseur comprise entre 5 et 30 nm environ (typiquement de l'ordre de 5 nm), et l'enrobage possède une épaisseur comprise entre 1 et 50 nm environ (typiquement de l'ordre de 5 nm).

- Une particule ou un agrégat nanoparticulaire comprenant un noyau comprenant des microparticules de $Y_2O_3:Tb$ et de TiO_2 , et un enrobage à base de Dextran, de préférence fonctionnalisé.
- Une particule ou un agrégat comprenant un cœur comprenant du $HfGeO_4$ recouvert d'une couche de TiO_2 , et un enrobage à base de SiO_2 , de préférence fonctionnalisé.

Un autre objet de l'invention concerne un procédé de production de particules ou agrégats nanoparticulaires tels que définis précédemment, comprenant :

- le mélange des deux composés tels que définis précédemment pour former une particule ou un agrégat et, éventuellement
- l'enrobage de la particule ou agrégat.

Dans une variante de mise en œuvre, le procédé comprend en outre une étape de fonctionnalisation, comprenant l'introduction sur la particule ou agrégat d'un élément de ciblage.

Les matériaux qui composent les particules ou agrégats de l'invention peuvent être produits par différentes techniques, qui sont connues en soi de l'homme du métier. Le procédé peut être adapté par l'homme du métier selon la nature des composés utilisés, et selon leur agencement dans les particules et agrégats. Ainsi, dans un mode de réalisation particulier, le procédé comprend:

- la préparation du cœur de la particule comprenant le premier composé inorganique,
- le recouvrement du cœur ainsi formé par une couche comprenant le second composé et, de manière préférée,
- l'enrobage de la particule ou agrégat ainsi obtenu par un matériau poreux.

Des méthodes alternatives de production de matériaux utilisables pour la production des particules de l'invention sont décrites par exemple dans Nelson et al, Chem. Mater. 2003, 15, 688-693 "*Nanocrystalline $Y_2O_3:Eu$ Phosphors*

Prepared by Alkalide Reduction" ou encore dans Liu et al., Journal of Magnetism and Magnetic Materials 270 (2004) 1–6 "*Preparation and characterization of amino–silane modified superparamagnetic silica nanospheres*".

Dans un exemple spécifique de réalisation, décrit en détail dans la partie expérimentale, permettant la production ou la synthèse d'une particule ou d'un agrégat comprenant un cœur comprenant du $Y_2O_3:Eu$ recouvert d'une couche de TiO_2 et d'un enrobage à base de SiO_2 , le procédé comprend les étapes suivantes :

- les nanoparticules du $Y_2O_3:Eu$ sont fabriquées en utilisant une réduction avec YCl_3 , $EuCl_3$ et éther couronne en milieu homogène,
- le revêtement avec TiO_2 peut être réalisé en précipitant $TiCl_4$ en solution acide, puis,
- la couche de silice facultative est obtenue par précipitation en milieu basique de silicate de sodium.

Dans un deuxième exemple spécifique de réalisation, décrit en détails dans la partie expérimentale, permettant la production ou la synthèse d'une particule ou d'un agrégat comprenant un cœur comprenant du $HfGeO_4$ recouvert d'une couche de TiO_2 et d'un enrobage à base de SiO_2 , le procédé comprend les étapes suivantes :

- la synthèse du cœur par co-précipitation des sels d'hafnium et de germanium amorphe,
- l'enrobage par TiO_2 , et
- l'enrobage par SiO_2 à partir de TEOS et/ou de silicate de sodium.

Un autre objet de l'invention réside dans toute composition comprenant des particules ou agrégats tels que définis précédemment et/ou susceptibles d'être obtenus par le procédé décrit précédemment. Bien que cela ne soit pas obligatoire, dans les compositions de l'invention, les particules présentent avantageusement une forme et une taille assez homogènes. Généralement, les

compositions comprennent entre 0,3 et 3000 mg de particules pour 100 ml. Les compositions peuvent être sous forme solide, liquide (particules en suspension), de gel, pâte, etc.

Un objet particulier de l'invention concerne une composition pharmaceutique comprenant des particules ou agrégats nanoparticulaires tels que définis précédemment et, éventuellement, un excipient ou véhicule acceptable sur le plan pharmaceutique.

Un autre objet particulier de l'invention concerne une composition diagnostique ou d'imagerie comprenant des particules ou agrégats nanoparticulaires tels que définis précédemment et, éventuellement, un excipient ou véhicule acceptable sur le plan physiologique.

L'excipient ou véhicule mis en œuvre peut être tout support habituel pour ce type d'applications, comme par exemple des solutions salines, isotoniques, stériles, tamponnées, etc. Elles peuvent comprendre en outre des agents de stabilisation, des agents édulcorants, tensio-actifs, etc. Elles peuvent être formulées sous forme d'ampoules, de flacons, de comprimés, de gélules, en utilisant des techniques de galénique connues en soi.

Les compositions, particules et agrégats de l'invention peuvent être utilisés dans de nombreux domaines, particulièrement en médecine humaine ou animale. Sous l'effet de rayons X, le cœur de la nanoparticule est excité et produit de l'énergie UV-visible, en particulier des UV. Les UV excitent le second composé qui, au contact de l'eau, émet des radicaux libres. Selon le temps d'exposition à la source d'excitation, les particules peuvent ainsi permettre la destruction de tissus (temps d'exposition par exemple de plusieurs minutes, par exemple 5 minutes) ou, simplement, une visualisation (imagerie, diagnostic: temps d'exposition très courts : de l'ordre de quelques secondes). Grâce à la forte pénétration des rayons X, les particules de l'invention sont applicables pour un balayage de tout tissu dans le corps. Elles peuvent également être utilisées avec une source d'excitation UV, pour les tissus de surface ou des cavités (peau, vessie, poumon, colon, etc.).

Un objet particulier de l'invention réside ainsi dans l'utilisation de compositions, particules ou agrégats nanoparticulaires tels que définis précédemment, en combinaison avec les rayons X, pour la fabrication d'un médicament destiné à la destruction de cellules cibles.

Un autre objet de l'invention réside dans l'utilisation de compositions, particules ou agrégats nanoparticulaires tels que définis précédemment, en combinaison avec les rayons UV, pour la fabrication d'un médicament destiné à la destruction de cellules cibles superficielles ou des cavités.

Un autre objet particulier de l'invention réside dans une méthode pour induire ou causer la lyse ou la destruction de cellules cibles, in vitro, ex vivo ou in vivo, comprenant la mise en contact de cellules cibles avec une ou des particules ou agrégats nanoparticulaires tels que définis précédemment, pendant une période de temps suffisante pour permettre aux particules ou agrégats de pénétrer dans des cellules cibles et, l'exposition des cellules à des rayons X ou UV, ladite exposition induisant ou causant la lyse ou la destruction desdites cellules cibles.

Les cellules cibles peuvent être toutes cellules pathologiques, c'est-à-dire des cellules impliquées dans un mécanisme pathologique, par exemple des cellules prolifératives, telles que des cellules tumorales, sténosantes (cellules du muscle lisse), ou du système immunitaire (clones de cellules pathologiques). Une application préférée réside dans le traitement (par exemple la destruction ou l'altération des fonctions) de cellules cancéreuses.

A cet égard, un objet particulier de l'invention réside dans l'utilisation de compositions, particules ou agrégats nanoparticulaires tels que définis précédemment (en combinaison avec des rayons X ou UV) pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement du cancer.

Un autre objet particulier de l'invention réside dans une méthode pour induire ou causer la lyse ou la destruction de cellules cancéreuses, in vitro, ex vivo ou in vivo, comprenant la mise en contact de cellules cancéreuses avec une ou des particules ou agrégats nanoparticulaires tels que définis

précédemment, pendant une période de temps suffisante pour permettre aux particules ou agrégats de pénétrer dans les cellules cancéreuses et, l'exposition des cellules à des rayons X ou UV, ladite exposition induisant ou causant la lyse ou la destruction desdites cellules.

Un autre objet de l'invention concerne une méthode de traitement du cancer, comprenant l'administration à un patient atteint d'un cancer d'une composition ou de particules ou agrégats nanoparticulaires tels que définis précédemment, dans des conditions permettant aux particules ou agrégats nanoparticulaires de pénétrer dans les cellules cancéreuses, et le traitement ultérieur du patient en présence d'une source d'excitation choisie parmi les rayons X et les UV, conduisant à une altération, une perturbation ou une destruction fonctionnelle de cellules cancéreuses du patient, traitant ainsi le cancer.

L'invention est utilisable pour traiter tout type de cancer, notamment les tumeurs solides, métastasées ou non, par exemple choisies parmi les cancers du poumon, foie, rein, vessie, sein, tête-et-cou, cerveau, ovaires, prostate, peau, intestin, colon, etc.

Les rayons peuvent être appliqués à tout moment après l'administration des particules, en une ou plusieurs fois, en utilisant tout système de radiothérapie ou de radiographie déjà disponible. Les particules peuvent être administrées par différentes voies, de préférence par injection, systémique ou locale, ou de manière orale. Des injections ou administrations répétées peuvent être envisagées, si nécessaire.

De façon générale et non restrictive, les rayonnements suivants peuvent être appliqués dans différents cas pour exciter les particules :

- Rayons X superficiels (20 à 50 keV) : pour l'excitation de nanoparticules en surface (pénétration de quelques millimètres).
- Rayons X pour le diagnostic 50 à 150 keV.
- Rayons X (ortho voltage) de 200 à 500 keV permettant de pénétrer des épaisseurs de tissus jusqu'à 6 cm.

- Rayons X (méga voltage) de 1000 keV à 25000 keV. Pour exemple l'excitation de nanoparticules pour le traitement du cancer de la prostate peut se faire via 5 rayons X focalisés ayant une énergie de 15000 keV.

Dans le domaine diagnostic, les particules de l'invention sont utilisables comme agent de contraste, pour détecter et/ou visualiser tout type de tissu. Ainsi, un objet de l'invention concerne l'utilisation de compositions, particules ou agrégats nanoparticulaires tels que définis précédemment, en combinaison avec les rayons X, pour la fabrication d'une composition destinée à la détection ou à la visualisation de cellules, tissus ou organes.

Un autre objet de l'invention réside dans l'utilisation de compositions, particules ou agrégats nanoparticulaires tels que définis précédemment, en combinaison avec les rayons UV, pour la fabrication d'une composition destinée à la détection ou à la visualisation de cellules, tissus ou organes superficiels ou des cavités.

Le terme "en combinaison" indique que l'effet recherché est obtenu lorsque les cellules, tissus ou organes d'intérêt, ayant incorporé en partie des nanoparticules de l'invention, sont excités par la source déterminée. Toutefois, il n'est pas nécessaire que les particules et les rayons soient administrés simultanément, ni selon le même protocole.

Le terme "traitement" désigne toute amélioration des signes pathologiques, comme notamment une diminution de la taille ou du développement d'une tumeur ou d'une zone tissulaire pathologique, la suppression ou la destruction de cellules ou tissus pathologiques, un ralentissement de la progression de la pathologie, une réduction de la formation de métastases, une régression ou une rémission complète, etc.

Les particules de l'invention peuvent également être utilisées *in vitro* ou *ex vivo*.

D'autres aspects et avantages de l'invention apparaîtront à la lecture des exemples qui suivent, qui doivent être considérés comme illustratifs et non limitatifs.

Légende des Figures

La Figure 1 donne une représentation schématique de la structure de particules de l'invention.

La Figure 2 représente le mode d'activation de particules selon l'invention en présence d'une source de rayons X.

La Figure 3 : Cliché de microscopie électronique à transmission montrant des nanoparticules de Y_2O_3 dopées au Gadolinium.

La Figure 4 présente le taux de survie des cellules après incubation avec les nanoparticules

La Figure 5 présente une image de microscopie confocale laser montrant l'accumulation des nanoparticules (en gris sur le cliché) dans les membranes de la cellule.

Exemples

1. Production de nanoparticules de Y_2O_3 dopées avec de l'Erbium ou du Gadolinium

Des nanoparticules de Y_2O_3 dopées avec de l'Erbium ou du Gadolinium ont été synthétisées à partir de surfactants fonctionnalisés (Y-AOT3, Eu-AOT3, et Gd-AOT3). Un mélange approprié des surfactants (en fonction de la concentration finale désirée $[Eu-AOT3]/[Y-AOT3]=0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,15$) a été dispersé dans de l'isooctane ou du cyclohexane, et de l'eau a été ajoutée afin de permettre la formation de micelles. La taille des micelles, qui influence la taille des matériaux obtenus, est contrôlée par la quantité d'eau ajoutée au mélange. La formation de l'hydroxyde se fait par addition de base. Les

particules ont ensuite été lavées (avec un mélange eau/éthanol), séchées puis chauffées à 800°C afin de former des nanoparticules cristallines.

10 mg de nanoparticules ont été dispersés dans 50 ml d'eau à pH=7,5. Une goutte de cette dispersion a été déposée sur une grille de cuivre/carbone et observée par microscopie électronique à transmission. Une photographie prise par microscopie est présentée sur la figure 3.

Les composés fabriqués ont montré une fluorescence UV sous excitation à l'aide de rayons X (pour Y_2O_3 dopé avec Gd).

2. Production de nanoparticules de $HfGeO_4$ enrobées d'oxyde de titane et de silice

La synthèse du matériau de cœur, $HfGeO_4$, se fait par simple co-précipitation de sels d'hafnium ($HfOCl_2$, 8 H_2O) et de germanium amorphe (GeO_2) en milieu aqueux. Un traitement thermique d'une durée comprise entre 4h et 10h à 1100°C ou à une température inférieure assure ensuite la cristallisation de $HfGeO_4$ sous forme de nanoparticules.

L'enrobage de ces particules à l'aide de TiO_2 se fait via l'utilisation du précurseur de titane $TiCl_4$. Sa réaction avec la soude conduit en effet à la condensation de $TiO(OH)_2$ à la surface de $HfGeO_4$. Un traitement thermique à 500°C d'une durée comprise entre 1h30 et 3h00 assure ensuite le passage de TiO_2 sous une forme cristalline, anatase, dotée de propriétés photocatalytiques.

L'enrobage à l'aide de silice s'effectue à partir de TEOS. L'hydrolyse lente et contrôlée de TEOS en milieu alcoolique et ammoniacé conduit à la formation d'une couche de silice à la surface des particules.

3. Biocompatibilité des nanoparticules

La biocompatibilité et la non-toxicité in vitro des nanoparticules enrobées par de la silice ont été testées in vitro sur des lignées cellulaires MCF7, KB et UCI. Les nanoparticules (30 à 1000 pg de particules / 1000 cellules) ont été

incubées avec ces cellules pendant 24, 48 et 72 h. Le taux de survie des cellules a été mesuré comme suit :

$$R_{sur} = \frac{\text{nombre de cellules vivante (avec particules)} / \text{nombre de cellule mortes (avec particules)}}{\text{nombre de cellules vivante (sans particules)} / \text{nombre de cellule mortes (sans particules)}}$$

Aucune différence significative n'a été observée avec les témoins sur le taux de survie et la division cellulaire (Figure 4).

4. Ciblage et internalisation des nanoparticules

Le ciblage et l'entrée spécifique des particules (avec éléments de ciblage en surface) dans les cellules via des récepteurs de surface ont été observés par microscopie confocale laser. Des nanoparticules ont été recouvertes de silice et fonctionnalisées avec LHRH via une liaison chimique (comme décrit dans Lévy et al, Chem. Mater.; 2002; 14(9) pp 3715; Nanochemistry: "*Synthesis and Characterization of Multifunctional Nanoclinics for Biological Applications*"). Les nanoparticules ont été incubées pendant 24 heures avec des cellules MCF7 (portant le récepteur LHRH) et observées par microscopie confocale laser. La figure 5 présente un image enregistrée après 24h et montre une accumulation des nanoparticules dans les membranes et dans les noyaux des cellules.

5. Protocole d'administration chez l'animal et traitement.

Les nanoparticules sont dispersées dans une solution isotonique (PBS, Saline) à une concentration allant de 1 à 20 mg/ml. Des injections de 0,5ml sont faites par voie intraveineuse, intratumorale ou intrapéritonéale. 24 à 48 heures post injection, les animaux sont soumis à des rayons X :

- Corps entier pour le diagnostic ou le traitement des métastases. Les rayons X utilisés peuvent être générés par les équipements de radiographie usuels ;

- Focalisés pour le traitement d'une tumeur solide ou d'une zone particulière du corps.

Des stratégies complémentaires peuvent être appliquées :

- après une injection simple, de multiples expositions aux Rayons X sont réalisées ;
- de multiples injections (espacées de plusieurs semaines), à chaque fois suivies d'une exposition simple ou multiple ;
- de multiples injections (espacées de plusieurs jours), suivie d'une exposition simple ou multiple.

REVENDICATIONS

1. Particule ou agrégat nanoparticulaire composite biocompatible, capable de générer des radicaux libres ou de la chaleur sous excitation par des rayons X, comprenant :

- un noyau comprenant un premier composé inorganique absorbant les rayons X et émettant de l'énergie UV-visible, et un second composé, inorganique ou organique, absorbant de l'énergie UV-visible et produisant des radicaux libres au contact de l'eau ou de l'oxygène, et
- de manière facultative, un enrobage biocompatible.

*pas garant
a terme de liberté*

2. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon la revendication 1, caractérisé en ce que sa taille est comprise entre 4 et 250 nm, de préférence entre 4 et 100 nm, encore plus préférentiellement entre 4 et 50 nm.

3. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que le premier composé inorganique est sous forme d'oxyde, hydroxyde, oxysulfure ou de sel, dopé avec une terre rare, de préférence à une concentration en cations inférieure à 15% en solution solide.

4. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le premier composé inorganique est choisi parmi Y_2O_3 , $(Y,Gd)_2O_3$, $CaWO_4$, GdO_2S , $LaOBr$, $YTaO_3$, $BaFCl$, Gd_2O_2S , $Gd_3Ga_5O_{12}$, $HfGeO_4$, $Rb_3Lu(PO_4)_2$ et $Cs_3Lu(PO_4)_2$, dopé avec une terre rare choisie parmi Gd, Eu, Tb, Er, Nb, Pr et Ce.

5. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon la revendication 4, caractérisé en ce que le premier composé inorganique est choisi parmi Y_2O_3 dopé avec Gd, Eu ou Tb.

6. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon la revendication 4, caractérisé en ce que le premier composé inorganique est le $HfGeO_4$ en solution mixte avec Zr.

7. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que le second composé est un composé inorganique choisi parmi les composés semi-conducteurs, de préférence TiO_2 , ZnO , CdS , CdSe , CdTe , MnTe et des solutions mixtes, éventuellement dopés.
8. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le premier composé inorganique forme le cœur du noyau, et en ce que le second composé se présente sous forme d'une couche ou de nanoparticules à la surface du cœur.
9. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les deux composés inorganiques du noyau sont disposés en multicouches successives.
10. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon la revendication 9, caractérisé en ce que le cœur du noyau formé par le premier composé inorganique présente une dimension comprise entre 5 et 50 nm environ, et en ce que la couche formée par le second composé à la surface du cœur possède une épaisseur comprise entre 1 et 30 nm environ.
11. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que les deux composés du noyau sont présents sous forme d'un mélange de nanoparticules.
12. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le rapport de la quantité ou de la concentration du premier composé sur le second composé est compris entre 0,2 et 5.
13. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend en outre un

élément de surface permettant de cibler spécifiquement des cellules ou des tissus biologiques.

14. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comporte un enrobage permettant la diffusion de petites molécules et de radicaux libres.

15. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon la revendication 14, caractérisé en ce que l'enrobage est composé d'une structure amorphe ou cristalline poreuse, de préférence il comprend un composé choisi parmi la silice, l'alumine, le PEG et le Dextran.

16. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon l'une des revendications 13 à 15, caractérisé en ce que l'élément de surface permettant de cibler spécifiquement des cellules ou des tissus biologiques est lié à l'enrobage.

17. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon l'une des revendications 13 à 16, caractérisé en ce que l'élément de ciblage de surface est une structure biologique ou chimique présentant une affinité pour des molécules présentes dans le corps humain ou animal, tel que un peptide, polypeptide, nucléotide, polynucléotide, une hormone ou une vitamine.

18. Particule ou agrégat nanoparticulaire, caractérisé en ce qu'il comprend un cœur comprenant du $Y_2O_3:Gd$ recouvert d'une couche de TiO_2 , et un enrobage à base de SiO_2 .

19. Particule ou agrégat nanoparticulaire, caractérisé en ce qu'il comprend un noyau comprenant des microparticules de $Y_2O_3:Tb$ et de TiO_2 , et un enrobage à base de Dextran.

20. Particule ou agrégat nanoparticulaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que sa forme est essentiellement sphérique.

21. Procédé de production de particules ou agrégats nanoparticulaires selon l'une quelconque des revendications 1 à 20, comprenant :

- le mélange des deux composés tels que définis dans les revendications 1 à 20 pour former une particule ou un agrégat et, éventuellement
- l'enrobage de la particule ou agrégat.

22. Procédé selon la revendication 21, caractérisé en ce qu'il comprend:

- la préparation du cœur de la particule comprenant le premier composé inorganique,
- le recouvrement du cœur ainsi formé par une couche comprenant le second composé et, de manière préférée,
- l'enrobage de la particule ou agrégat ainsi obtenu par un matériau poreux.

23. Composition pharmaceutique ou diagnostique comprenant des particules ou agrégats nanoparticulaires selon l'une quelconque des revendications 1 à 20.

24. Utilisation de particules ou agrégats nanoparticulaires selon l'une quelconque des revendications 1 à 20, ou d'une composition selon la revendication 23, en combinaison avec les rayons X, pour la fabrication d'un médicament destiné à la destruction de cellules cibles.

25. Utilisation de particules ou agrégats nanoparticulaires selon l'une quelconque des revendications 1 à 20, ou d'une composition selon la revendication 23, en combinaison avec les rayons UV, pour la fabrication d'un médicament destiné à la destruction de cellules cibles superficielles ou des cavités.

26. Utilisation de particules ou agrégats nanoparticulaires selon l'une quelconque des revendications 1 à 20, ou d'une composition selon la revendication 23, en combinaison avec les rayons X ou UV, pour la fabrication d'un agent destiné à la détection ou à la visualisation de cellules, tissus ou organes.

27. Utilisation selon la revendication 24, 25 ou 26, caractérisée en ce que les cellules cibles sont des cellules cancéreuses.

28. Utilisation selon l'une des revendications 24 à 27, caractérisée en ce que les rayons sont appliqués en utilisant un système de radiothérapie ou de radiographie.

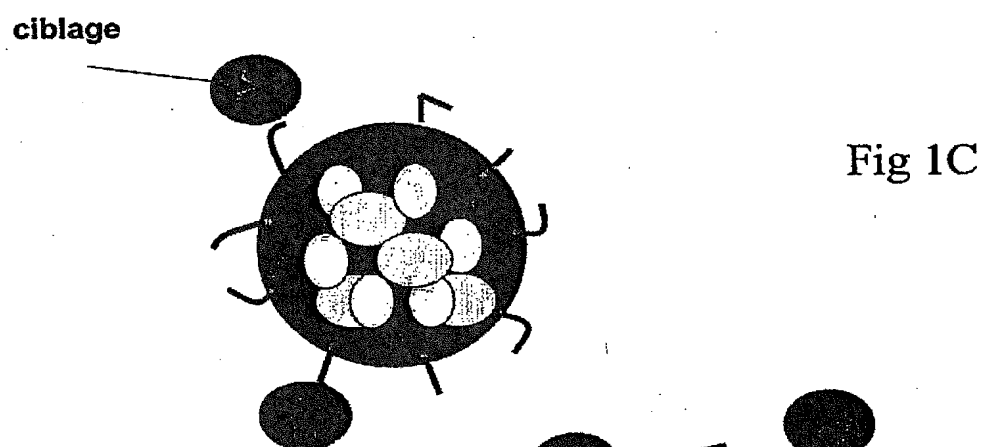
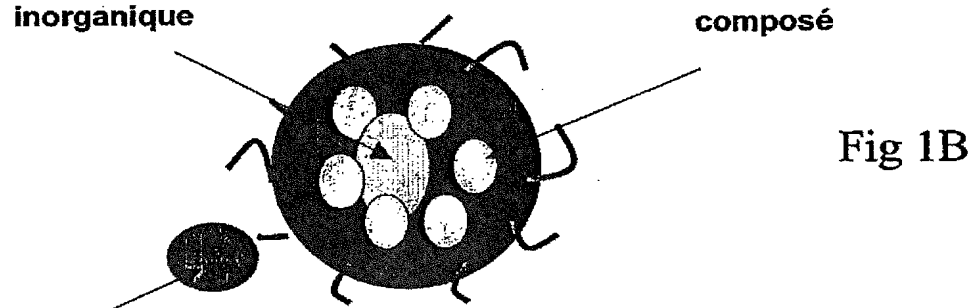
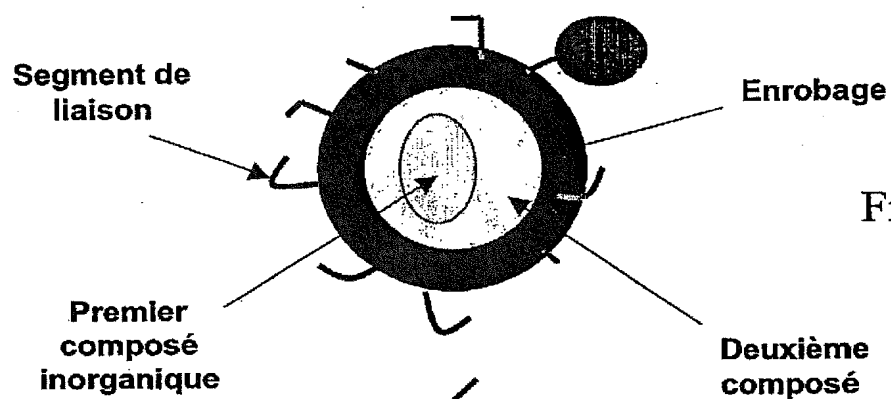


Fig 1D

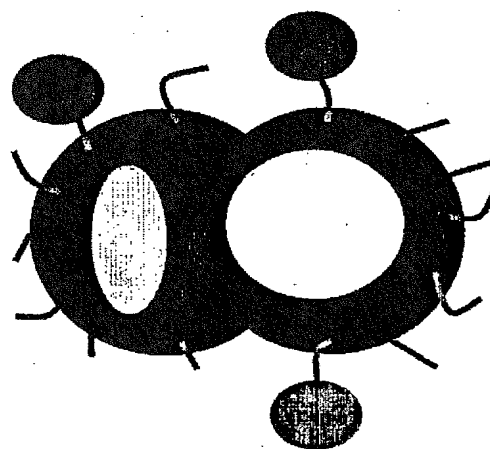
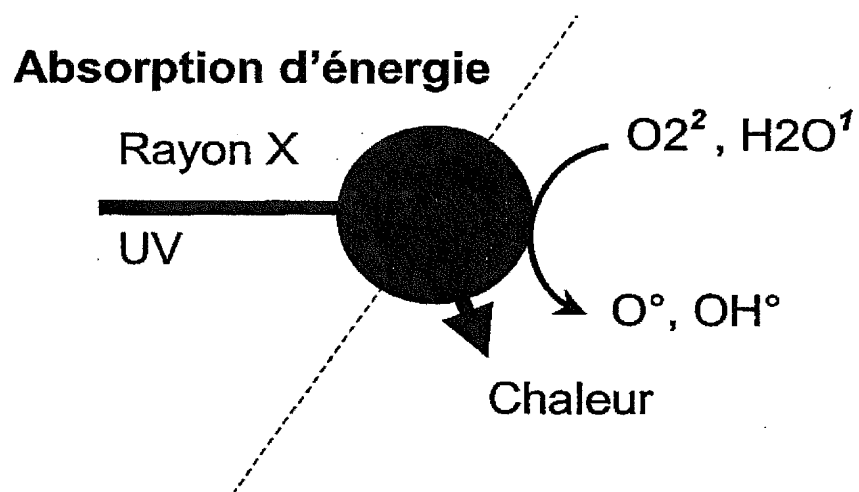


Figure 1

**Figure 2**

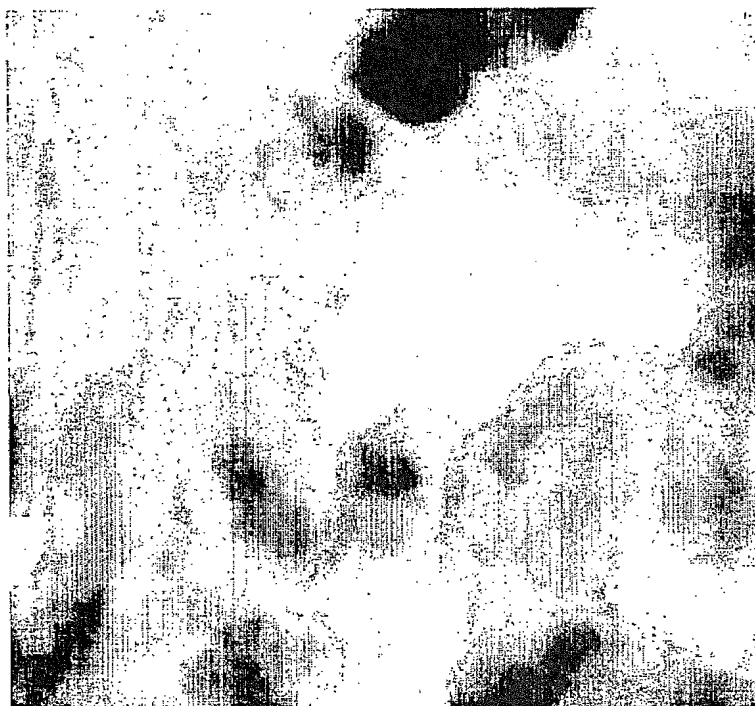


Figure 3

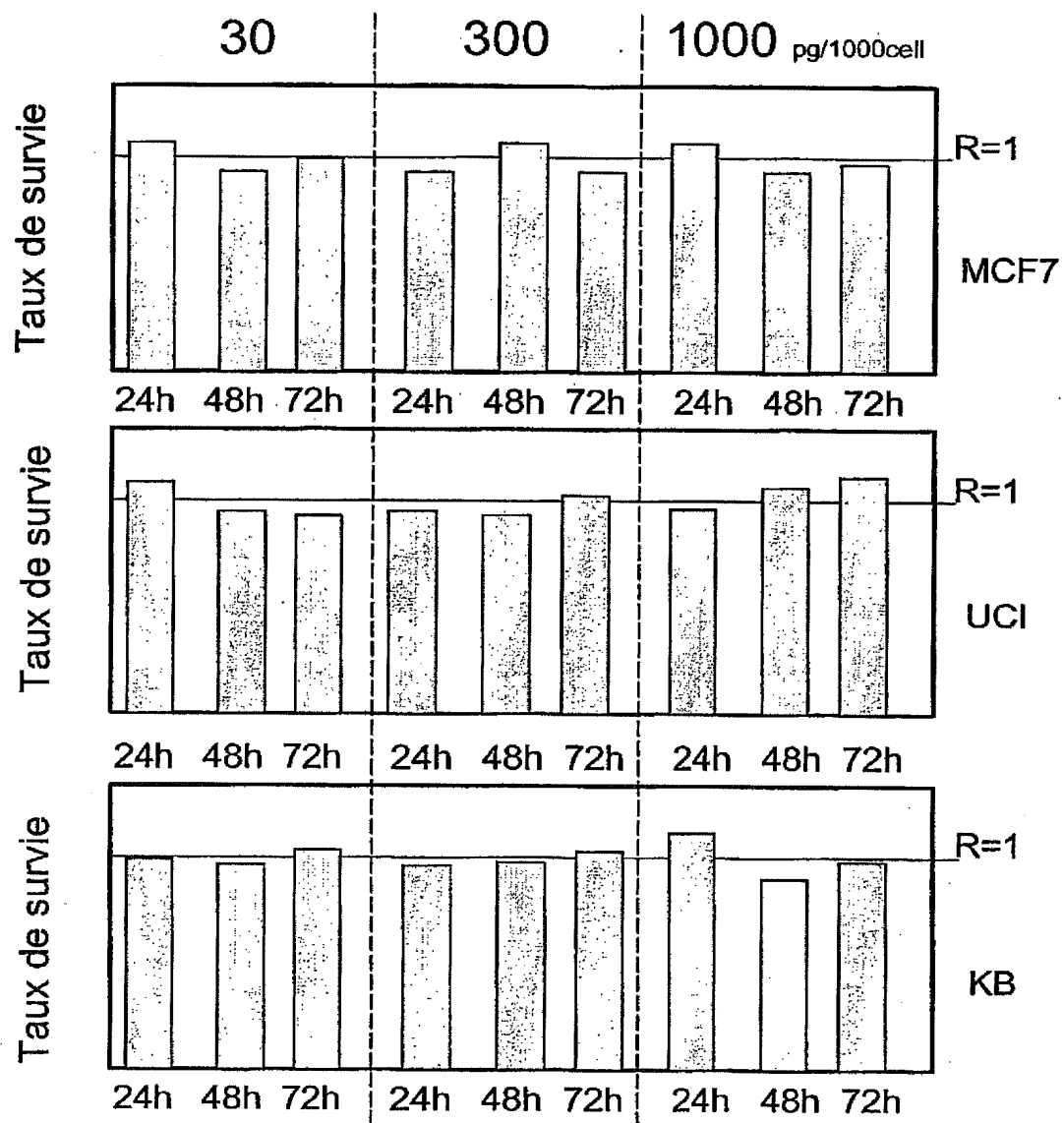


Figure 4

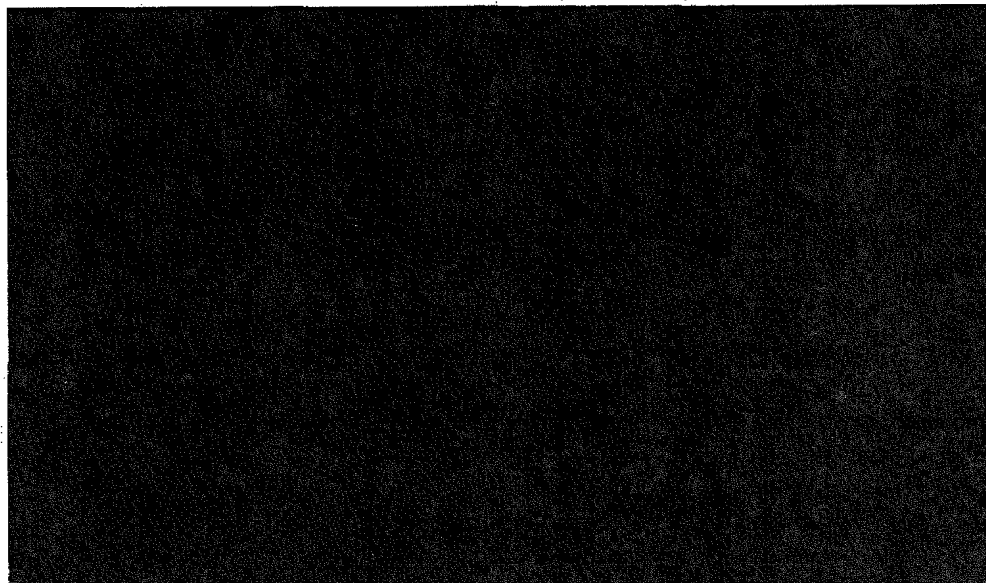


Figure 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR2005/001145

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K51/12 A61K9/14 A61P35/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, PAJ, EMBASE, FSTA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SHIBATA HITOSHI ET AL: "Hydroxyl radical generation depending on O2 or H2O by a photocatalyzed reaction in an aqueous suspension of titanium dioxide" BIOSCIENCE BIOTECHNOLOGY AND BIOCHEMISTRY, vol. 62, no. 12, December 1998 (1998-12), pages 2306-2311, XP009042440 ISSN: 0916-8451 cited in the application the whole document	1-28
Y	EP 1 162 626 A (SHIMIZU TECH CO LTD ; NETUREN CO LTD (JP); KANSAI TECHNOLOGY LICENSING) 12 December 2001 (2001-12-12) column 1, paragraph 1 column 2, paragraphs 9,13 column 3, paragraph 14 column 6, paragraph 34; claims 1,2,4,6	1-28

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 September 2005

Date of mailing of the international search report

18/10/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

HOUYVET, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR2005/001145

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1162626	A	12-12-2001	JP 3490015 B2	26-01-2004
			JP 2000258596 A	22-09-2000
			CA 2364455 A1	14-09-2000
			DE 60011246 D1	08-07-2004
			DE 60011246 T2	30-06-2005
			EP 1162626 A1	12-12-2001
			WO 0054284 A1	14-09-2000

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2004)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR2005/001145

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 A61K51/12 A61K9/14 A61P35/04

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A61K A61P

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, PAJ, EMBASE, FSTA

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	SHIBATA HITOSHI ET AL: "Hydroxyl radical generation depending on O2 or H2O by a photocatalyzed reaction in an aqueous suspension of titanium dioxide" BIOSCIENCE BIOTECHNOLOGY AND BIOCHEMISTRY, vol. 62, no. 12, décembre 1998 (1998-12), pages 2306-2311, XP009042440 ISSN: 0916-8451 cité dans la demande le document en entier	1-28
Y	EP 1 162 626 A (SHIMIZU TECH CO LTD ; NETUREN CO LTD (JP); KANSAI TECHNOLOGY LICENSING) 12 décembre 2001 (2001-12-12) colonne 1, alinéa 1 colonne 2, alinéas 9,13 colonne 3, alinéa 14 colonne 6, alinéa 34; revendications 1,2,4,6	1-28

☐ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

7 septembre 2005

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

18/10/2005

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

HOUYVET, C

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR2005/001145

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 1162626	A	12-12-2001	JP 3490015 B2	26-01-2004
			JP 2000258596 A	22-09-2000
			CA 2364455 A1	14-09-2000
			DE 60011246 D1	08-07-2004
			DE 60011246 T2	30-06-2005
			EP 1162626 A1	12-12-2001
			WO 0054284 A1	14-09-2000

Formulaire PCT/ISA/210 (annexe familles de brevets) (Janvier 2004)